ï

56446-2006646-10361

(अचीच्दर (६ए)

DELPHION

My Account <u> ज्विन्त</u>्र सिन्द्र हिष्ट्विह्याती

PRODUCTS

Search: Quick/Number Boolean Advanced Derwent

Help

The Delphion Integrated View: INPADOC Record

Tools: Add to Work File: Create new Work File 🔽 Add Get Now: V PDF | File History | Other choices View: Jump to: Top

JP63500004T2:

JP Japan 용 Country:

T2 Publ. unexam. Pat. Appl. based on Internat. Appl. i ₽Kind:

Resolution

된

Email this to a friend

see Assignee PInventor:

None P Assignee: 1988-01-07 / 1986-06-10 Published / Filed:

JP1986000503306

& Application Number:

Advanced: C12N 9/78; C12P 13/02; C12P 13/04; C12P 13/06; C12P 13/08; C12P 41/00; PIPC Code:

Core: C12P 13/00; more... IPC-7: C12P 13/04; C12P 41/00;

None ⊕ ECLA Code: 1986-06-10 WO1986DK0000061 1985-06-11 <u>DK1985000002616</u> Priority Number:

P Designated Legal Status:

None

₽ INPADOC

Country:

WO8607386A1 1986-12-18 1986-06-10 COMPOUNDS Title Filed Pub. Date **Publication** PDF Family:

AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE AU EP JP US **7 JP6350004T2** 1988-01-07 1986-06-10 Get Now: Family Legal Status Report

₹	EP0228392A1	1987-07-15	1986-06-10	EP0228392A1 1987-07-15 1986-06-10 COMPOUNDS
D	DK0261685A0	1985-06-11	1985-06-11	DK0261685A0 1985-06-11 1985-06-11 ORGANISKE FORBINDELSER
	☑ DK0261685A 1986-1	1986-12-12	1985-06-11	12-12 1985-06-11 FREMGANGSMAADE TIL FREMSTILLING AF OPTISK AKTIVE, ORGANISKE FORBINDELSER
	AU5965286A1	1987-01-07	1986-06-10	AU5965286A1 1987-01-07 1986-06-10 COMPOUNDS
9	6 family members shown	shown above	g.	

®Other Abstract

CHEMABS 107(23)216168M <u>DERABS C86-346609</u>





Nominate this for the Gallery...



Powered by Verity

Copyright @ 1997-2007 The Thomson Corporation Subscriptions | Web Seminars | Privacy | Terms & Conditions | Site Map | Contact Us | Help

9日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公表

四公表特許公報(A)

昭63-500004

砂公表 昭和63年(1988)1月7日

@Int_Cl_4

識別記号 庁内整理番号

審 査 請 求 未請求 7823-4B 予備審查請求 未請求

部門(区分) 1(1)

(全 5 頁)

C 12 P 41/00 // C 12 P 13/04

図発明の名称

光学活性な有機化合物の調整方法

创特 関 昭61-503306

രമാല 頤 昭61(1986)6月10日 **❷翻訳文提出日 昭62(1987)2月10日**

❷国 際 出 願 PCT/DK86/00061

愈国際公開番号 WO86/07386

砂国際公開日 昭61(1986)12月18日

優先権主張 Ø1985年6月11日發デンマーク(DK)⑩2616/85

79発 明 者

ゴドフレッドセン スペン ェ デンマーク,デーコーー3500 ベールレセ,スメデガデ,15ベー リク

70発 明 者 アンドレセン オト

デンマーク, デーコー-3600 ステンレセ, ステンレセバイ, 5

切出 願 人 ノボ インダストリ アクティ デンマーク, デーコー-2880 バグスパエルト ノボ アレ (番

ーゼルスカブ 地なし)

②代 理 人 弁理士 育 木 外 4 名 朗

AT(広域特許), AU, BE(広域特許), CH(広域特許), DE(広域特許), FR(広域特許), GB(広域特 の指定 国 許), IT(広域特許), JP, LU(広域特許), NL(広域特許), SE(広域特許), US

最終頁に続く

請求の範囲

1. 対応するアミノニトリルの鏡像異性混合物の溶液を銀 像異性選択的なニトリラーゼで処理し、続いて生成する光学 活性なアミノ酸又はアミノ酸アミドを回収することから成る アミノ酸又はアミノ酸アミドの調製方法。

2. 一般式1:

R-CH(NH2)COX (1)

(ここで、Rはインドリル; ベンジル; ベンジロキシ;ヒド ロキシ、メルカプト、アミノ、ハロゲン、フェニル、フェノ キシ、ベンジル又は低級アルキルチオで置換されていてもよ い低級アルキル;又はヒドロキシ、アミノ、ハロゲン、カル ボキシ又は低級アルコキシから成る置換基群の1又は2以上 で置換されていてもよいフェニルを表し!更にXはヒドロキ シ又はアミノ;又はそれらの塩を表す)

で表わされる光学活性なアミノ酸又はアミノ酸アミドを興 製することを特徴とする請求の範囲第1項に記載の方法。

- 3. レー立体配置のアミノ酸又はアミノ酸アミドを調製す ることを特徴とする講求の範囲第1項又は第2項に記載の方
- 4. 少なくとも25%過剰の鏡像異性のアミノ酸又はアミ ノ酸アミドを调製することを特徴とする先行する請求の範囲 のいずれかに記載の方法。
- 5. 約6から約13までの月値で処理を行うことを特徴と する先行する請求の範囲のいずれかに記載の方法。

- 5. 変換をアミノニトリルラセマーゼの存在下に行うこと を特徴とする先行する請求の範囲のいずれかに記載の方法。
- 7. 約20から約45℃、好ましくは約37℃の反応温度 を使用することを特徴とする先行する請求の範囲のいずれか に記載の方法。
- 8. 変換を、アルコール、ジオキサン、N,N-ジメチル フォルムアミド、ジメチルスルフォキシド又はヘキサメチル フォスフォラストリアミドを含んでいてもよい水性媒体中で 行うことを特徴とする先行する請求の範囲のいずれかに記数
- 9. 微生物起源、好ましくはパクテリア起源のニトリラー ゼを使用することを特徴とする先行する請求の範囲のいずれ かに記載の方法。

10. ナショナル・コレクション・オブ・インダストリアル・ バクテリア(NCIB)にNCIB番号12256 で寄託した株番号311 又 はその突然変異体の培養で得られるアミノニトリル・ヒドロ ターゼの酵素的性質と実質的に同一の酵素的性質を有するア ミノニトリル・ヒドラターゼを使用することを特徴とする請 求の範囲第9項に記載の方法。

11. アミノニトリルを対応する光学活性なアミノ酸又はア ミノ敵アミドへ変換するための鏡像異性選択的なニトリラー ぜの使用方法。

明細書

光学活性な有機化合物の瞑製方法

発明の背景

本発明は、光学活性なアミノ酸の調製方法に関する。更に詳しくは、本発明は、アミノ酸のアミノニトリル類似体の段像異性混合物の水溶液を鏡像異性選択的なニトリラーゼで処理し、その後生成する光学活性アミノ酸又はアミノ酸アミドを回収することから成る、光学活性なアミノ酸又はアミノ酸アミドの単一の鏡像異性体を調製する方法に関する。

光学活性のアミノ酸は工業的に大きな興味のある有機化合物のクラスを構成する。従って天然に壓出するアミノ酸は食物や食料添加物として大きなスケールで工業的に適用され、近年では天然に見出されず後に非天然性アミノ酸として参照するいくつかのアミノ酸が、例えば種々の薬学的組成物の構成成分や光学活性化合物の有機合成のための中間体としての幅広い用途が見出されている。

それらの分子構造に起因して、多くのアミノ酸はアミノ酸分子のいわゆる光学異性に関連して異なる2つの固有の形態で存在することができる。分子レベルでは他の鏡像であるこれら2つの形態のアミノ酸は遺常アミノ酸のDー体及びしー体として表示される。天然に見出される多くのアミノ酸はし一立体配置であり従って、対応するDー体又は異性体は生体細胞により代謝されることができず温常の細胞代謝及び細胞

例が米国特許明細書第 4,080,259号及び第 3,971,700号に記載されている。これらの特許に開示された方法は次のスキーム!のように例示することができる。

ここで、Phは例えばフェニルを示す。

機能を阻害するので、食物や食料添加物として使用されるアミノ酸もし一立体配置であることが必須である。しかかしDーアミノ酸のこの能力は、例えばその活性が分子構造中の天然にない光学異性の残酷による又は残器により高められる、変学的に活性な化合物中への天然にないアミノ酸の異性体を超み入れることにより役立てて利用することができる。このような場合には、天然に存在する立体配置を有する分子種の存在はこのような場合に問題の化合物の生物的活性に有害な効果を及ぼすので、天然にない立体配置のアミノ酸のみを使用することが必須である。

天然及び天然にないアミノ酸の広い用途のため、一般に幅広い種類のアミノ酸の工業的適用のための光学的に純粋なつまり鏡像異性的に純粋な天然及び天然にない立体配置を利用できることが高度に望まれており、一方逆にD一体とL-体の混合物であるいわゆるチャミ体は限定された工業的興味しかない。

アミノ酸の調製において1つの鏡像異性体を過剰に供給するという希望は、このような化合物の工業的生産に現在使用される方法中に反映されている。微生物の性質に起因して天然の立体配置のアミノ酸を単独に生産することになる微生物酸降により、食物及び食料添加物として使用される多くのアミノ酸が生産される。更に微生物又は他の生体から誘導される酵素も、このような場合、適用された酵素の光学異性からその光学異性を誘導するアミノ酸の生産に使用されてきた。

光学活性なアミノ酸の調製に使用されてきた酵素的方法の

与える。従って上紀米国特許明報書に開示された方法は、光学的に純粋な L - 及び D - アミノ酸の調製のための手段としての役割を果たす。

アミノニトリルを対応するマミノ酸アミドに変換するための酵素の使用は実行可能であるが、化学的加水分解と比較して利点を提供しない。ジャラゲス(Jallageas) と共同研究者によりアドバンシーズ・イン・バイオケミカル・エンジニアリング、14、(1980) 1 - 32、に記載されているように、アミノニトリルの酵素的変換はローアミノ酸とレーアミノ酸の大点、では、アミノによりのでは、アミノになる。従ってこの酵素的方法は、アミノニトリルの化学的変換の欠点、つまりラセミ体の出発物でより、サイカのみが反応の経路中で発生するローアミノ酸アミドから分離されなければならない所望のアミノ酸に変換されるという欠点に類似した欠点を被ることになる。

発明の概要

本発明方法は、アミノニトリルの2つの競像異性体の1つを対応するアミノ酸又はアミノ酸アミドへ優先的に変換するニトリラーゼを使用して、アミノニトリルの対応するアミノ酸又はアミノ酸アミドへの変換を行うことを特徴としている。

本発明方法は、競像異性選択的なニトリラーゼが、ラセミ体アミノニトリルから、1つの競像異性体を週剰に含むアミノ酸又はアミノ酸アミドを生成する役割を果たす条件下で、 見出され使用されることができるという驚くべき観察に基づくものである。所導の化合物のみを得ることが好ましいにも かかわらず、通常は所留の化合物を過剰に合む混合物が得られる。本発明の本質的な特徴は次のスキーム』に例示される。

ここでRは下配に定義する通りである。

本発明方法による調製できる化合物は一般的]: R-CH(NH₂)COX ())

65 での間、好ましくは20と45 での間、最も好ましくは37 でで行うことができる。望むならば、反応物の溶解度を増加させるために有機溶媒を利用することができ、モパノール又はダーシャリーブタノールのようなアルコールであり、又はジオキサン、NNN-ジメチルフォルムアミド、ジメチルフォキシド又はヘキサメチルフォススォラストリアミドのような有假溶媒である。彼反応は、反応物の懸濁物又は例えば水とヘキサン又はシクロヘキサンのような皮化水素のような2つの混合しない溶媒を使用する2相系で行うことができる。

本発明方法に適用されるニトリラーゼは、精製した酵素、 組酵素溶液、所望の活性を示す微生物細胞又は細胞のホモジネートであってもよい。必要ならば、固定された状態又は化 学的に修飾された形態の酵素を使用して、利用された反応条 件下で適用された酵素の良好な安定性と反応性を確保しても よい。

本発明方法は、2つの鎮像異性体の1つを本酵素的方法の出発物質として使用されるアミノニトリルの2つの鎮像異性体の他のものへの迅速な相互変換を確保するために中性又はアルカリ性pR値で行うことができる。この相互変換は7未満のpH値でも起こることができ、又はそれはアミノニトリルラセマーゼを適用することにより確保することができる。それゆえ優先的なpH値は約5から約13である。

上述した通り、本発明方法で使用されるニトリラーゼは、

で扱わすことができる:ここで、Rはインドリル:ベンジル:ベンジロキシ;ヒドロキシ、メルカプト、アミノ、ハロゲン、フェニル、フェノキシ、ベンジル又は低級アルキルチオで置換されていてもよい低級アルキル;又はヒドロキシ、アミノ、ハロゲン、カルボキシ又は低級アルコキシから成る置換差群の1又は2以上で置換されていてもよいフェニルを喪し;Xはヒドロキシ又はアミノ;又はそれらの塩を要している。

それゆえに、出発物質は一般式 []:

 $R-CH(NH_{\pi})-CN$ (G)

のアミノニトリルであり、ここでRは上記で定義した通り、 又はその也である。

Rと示されている置換基の例は次の通りである。メチル、イソプロピル、セカンダリーブチル、フェニル、ローヒドロキシフェニル、ベンジル、1ーヒドロキシエチル、メルカプトメチル、メチルチオメチル、ベンジロキシ及びフェノキシメチル。好ましくはRは、ヒドロキシ、アミノ及び/又は低級アルコキシから成る群の1又はそれ以上で置換されていてもよいインドリル又はベンジルである。

ここで低級アルギルという語は、8未機、好ましくは5未 機の設素原子を含むアルキルを示している。同様に低級アル コキシは8未満、好ましくは5未満の炭素原子を含んでいる。

本発明による酵素的方法は、例えば反応混合物のpH値及び 温度をコントロールしなから水溶液中のニトリラーゼとアミ ノニトリルの混合物を攪搾することによるパッチ式方法によ り行うことができる。反応温度は、反応媒体の凝固点と約

アミノニトリルの 2 つの鏡像異性体に対して異なっただきとが 2 つの鏡像異性体に対して異なれる。 通常本名 2 である。 では、 2 である。 では、 3 では、 4 でのの鏡像異性体により 4 では、 5 での鏡像異性体により 4 では、 5 での鏡像異性体により 5 では、 6 では、 7 では、 6 では、 7 では、 8 では、 9 では、 8 では、 9 では、 8 では、 9 では、 9

本発明方法で使用される酵素は、微生物、植物又は動物から単離することができる。しかし好ましくは、バクテリア、関又は他の微生物のような微生物起復の酵素を利用する。

エトリラーゼを生産するための做生物種の例は次の道りである。 <u>アソイドモナス、グルコノバクター、アセトバクター、アクロモバクター、アシネトバクター、シトロバクター</u>、エンテロバクター、エルウィニア、エシュリヒア、クレブシーラ、ブロテウス、セラティア、イェルシニア、アエロモナス、ビブリオ、スタフィロコクス、ステブトコクス、クロストリックム、ルーコノストック、セルロモナス、ミクロバクテリ

ウム、プロピオニバクテリウム、ミコバクテリウム、ストレ プトミセス、チャエトメラ、セアトリア、ディブロディア、 <u>フォーマ、コノチリウム、ミロセシウム、ベスクロチア、メ</u> <u>ランコニウム、エピコクム、ベニシリウム、アスベルギルス</u>、 <u>ロスポリウム、スコプラリオプシス、パエシロミセス、ベル</u> <u>チシリウム、トリコテシウム、プルラリア、モノトスポラ</u>、 クラドスポリウム、ヘルミントスポリウム、クリソスポリウ <u>ム、ロドトルラ、クロエケラ、ゲオトリフム</u>、そして好まし $\langle u \underline{7} \underline{7} \underline{9} \underline{9} \underline{0} \underline{A}, \underline{7} \underline{7} \underline{9} \underline{9} \underline{7} \underline{9} \underline{0} \underline{A}, \underline{7} \underline{7} \underline{9} \underline{9} \underline{0} \underline{A}, \underline{7} \underline{7} \underline{9} \underline{9} \underline{0} \underline{A}$ <u>アルカリゲネス、シゲラ、ペプトコカセアエ、ブソイドモナ</u> <u>ダセアエ、シトファガ、バクテロイダセアエ、プチリピトリ</u> <u>オ、セレノモナス、ジモモノエス、クロモバクテリウム、フ</u> <u>ラポバクテリウム、ミクロコクス、ペディオコクス、バチル</u> ス、ラクトバチリス、プレビバクテリウム、テルムス、コリ <u>ネバクテリウム、ヒフォミクロピウム、バクテリジウム、ア</u> <u>クチノミセタレス、リゾプス、ミコール、カンディダ、サン</u> カロミセス、ノカルディア、ロドコクス、ステンフィリウム 及びトリロアシスの種、アグロバクテリウム・ラディオバク <u>ター、アソイドモナス・アエロギノサ、アソイドモナス・フ</u> <u>ルオレセンス</u>、<u>ブソイドモナス・プティダ</u>、<u>コリネバクテリ</u> $\underline{\textbf{\textit{j}}} \perp \cdot \underline{\textbf{\textit{r}}} + \underline{\textbf{\textit{r}}}} + \underline{\textbf{\textit{r}}} + \underline{\textbf{\textit{r}}}} + \underline{\textbf{\textit{r}}} +$ <u>ィフテリチクム、ノカルディア・ロドクロウス、エシェリヒ</u> $\underline{r} \cdot \underline{\neg \neg \neg \neg}$, $\underline{J} \cdot \underline{J} \cdot$ <u>ストリス、ラチラス・オドラツス、ビシア・ピロサ</u>、ストレ

インA 4 (オラングのラボラトリー・オブ・ミクロバイオロジー (以下LMDとして示す) に番号LM079.2 で寄託)、ストレインN-771,N-774 及びN-775(それぞれ日本のファーメンテーション・リサーチ・インスティチュート (以下FRIとして示す) に第4445号、4446号及び4447号として寄託) の株、及びここに参考文献として組み入れられる米国特許明細書第 4,001,081号の表』に述べられている妹R332(オラングのセントラアルブリュー・フォー・シメルカルチャレス (以下CBSとして示す)、R340(CBS番号495.74)、R341(CBS番号496.74)、A111(CBS番号497.74)、B222(CBS番号498.74)、A112,A13,A141,A142,B211,B212,B221,C211(CBS番号499.74)、R21.R22.R311,R312(CBS番号717.73)及びR331。

所望のアミノ酸アミド又はアミノ酸はそれ自身公知である方法、例えば必要に応じて酸性度を調節した後の沈殺又は蒸発により、反応混合物から卑難される。

先行する説明中及び以下の実施例及び請求の範囲中に開示されている特徴は、単独で又は組み合わされて異なった形態 に本発明を現実化するための材料としてもよい。

本発明方法を以下の実施例により更に例示するが、 該実施 例は本発明を限定するものと考えられるべきではない。 これ らの実施例はいくつかの好ましい態機を例示する。

実施例1

光学活性しーロイシンアミドの調製

鏡像異性選択的なアミノニトリルヒドラターゼの調製品を、

塩化アンモニウムの代用物として1%のグルコース、0.05%のイースト抽出物及び0.6%のアセトニトリルを含む修正されたM9媒体(マニアチスらのモレキュラー・クローニング、ア・ラボラトリー・マニュアル、CSH、1982年参取)中で、ニトリラーゼを生産する株第311号(1986年5月にナショナル・コレクション・オブ・インダストリアル・パクテリア(NCIB)にNCIB番号12256で客託)を培養することにより調製した。発生するバイオマスを3日間37でで成長させた後収穫し、リン酸緩衝核(0.1 M、pH7)で完全に洗浄し、最後に該緩衝液中に懸樹液として保存した。この懸濁液を次の実施例で酸素溶液として使用した。

ラセミ体のロイシンアミノニトリルの溶液を次の方法で調 製した。

5.5 mdの水中の塩化アンモニウム(0.032モル)を、室温で2.2 mdの水中の3 ーメチルプタナール(0.031モル)の溶液に加えた。30分後に、接混合物を0でまで冷却してシアン化ナトリウム(0.031モル)の溶液を加えた。次いで生成する混合物を1時間0でで、次いで12時間至温で競拌した。最後に接溶液をリン酸緩衝液(0.1 M.pl.7)で解釈してアミノニトリルの最終的な温度が120mlとなるようにした。

続いて移アミノニトリルの酵素的加水分解を、酵素溶液を0.3 mdのアミノニトリル溶液当たり0.1 md加丸、そして生成する混合物を1時間提择し、遠心分離で酵素を除去し、そして最後に生成物を吸収してイオン交換樹脂からそれを溶離させることにより行った。このような方法で単離されたアミド

は、40%のL-アミドを鏡像異性的に過剰に含んでいた。 実施例 2

光学活性なし-ロイシンの調製

ロイシンアミノニトリルの溶液を、実施例1で述べた方法と類似した方法で製造し上記した酵素溶液で処理した。酵素 的加水分解の間にときどき、酵素を遠心分離で除去しその後 反応混合物のpHを2Mの水酸化ナトリウム溶液を加えて11 に調節した。15分後に反応混合物のpHを初期値に調節し、 生触媒と混合した。この操作を全反応時間6時間の間に5回 行い、その後で運磨クロマトグラフィーで決定したところア ミノニトリルのアミノ酸への変換は完了していた。次いで該 アミノ酸はイオン交換クロマトグラフィーで単離され、35 X線像異性的に過剰に含むことが見出された。

実施例 3

光学活性なレーバリンアミドの調製

実施例1で述べた方法と類似した方法でイソブチルアルデヒドからレーバリンアミドを顕製した。反応混合物中のレーアミドの鏡像異性的過剰度は35%であることが見出された。 実統例4

光学活性なしーバリンの調製

実施例 2 で述べた方怯と類似した方法でイソブチルアルデヒドから L - パリンを調製した。 L - アミノ酸の鏡像異性的過剰度は 3 0 %であることが見出された。

回 課 課 主 報 告 broadend Applicate in PCT/DKS6/00061

A CLASS			i stranduren errenta septe antigate att t mit trattoral Consultantian proj IPC				
C 12	P 41/0						
	844 PEN						
		- December 1	Waterwick Bracket 7				
-	- Statem		Clos sifferent Symbols				
LPC	- 1	C 07 8 19/02; C 12	א 9/78, /8o;				
US CI	. 1	C 12 P 13/00-/14, 195: 2, 30, 50: 43	720-724, 41/00 5: 106-110, 111-116, 128,	120 227 228			
		Description Secretari	other Own Marketon Decembers	127, 227, 220			
to the EArth Shall exist Designated on the Points Secretary 1							
			Classes as above				
		MINDERED TO SERVENTE					
	Canto	a is patement ,, and patement more	re appropriate, of the subsection property to	Referent to Clate No. "			
×	FA,	A. 2 447 359 (AGENCI SATION DE LA RECI 22 August 1980	e nationale de valori- Hergie)	1-3,5,9,10,11			
x	No !	micel Abstracts, Vol 96 (1982) abstract 160 701q, Adv Biotachnol 6th, 1980, 3, 7-33 (Pr)					
^	₽,	A, 0 093 782 (YAMAD) 16 November 1983	A)				
^	us,	A. 3 940 316 (ACENCE NATIONALE DE VALORI- SATION DE LA RECHERCHE) 24 February 1976					
^	us,	, A, & OOI OBI (ACENCE NATIONALE DE VALCHI- BATION DE LA RECHERCHE) § January 1977					
* Special biological of short decorations of "" * Special biological of short decorations of the set short is yet. * Special biological of the proof sets of the set short is yet. * Special biological of the proof sets of the set short is yet. * Special biological of the set short biological of the set short biological of the sets of the							
W. CL (TT)							
1986-09-02							
	-	· mary	Payer of Americal Office	- Justin			
	h Deta		It prode Com	· ·			
	Swedish Patent Office Agneta Terrerfeldt						

第1頁の統き

砂発 明 者 イングボルセン キユエルド

デンマーク, デーコーー3500 ベールレセ, クロステルゴールドス

砂発 明 者 ユデ ビルギツティ

デンマーク, デーコーー2100 コペンハーゲン エー, エステルブ ロガデ, 33